

# 微生物を自然付着させたバイオリアクターの応用(Ⅱ)

河村 眞也\*  
上野 義栄\*\*  
宮島 直人\*\*  
早川 潔\*\*\*  
村上 誠\*\*\*\*  
飯尾 毅\*\*\*\*\*

## 【要 旨】

蜂蜜・グルコースを原料とし酵母を不織布担体に固定化させたバイオリアクターでアルコール発酵を行い、そのアルコールを原料とし酢酸菌をパーライト・不織布に固定化させたバイオリアクターによって酢酸発酵を行って、蜂蜜の風味をもつ酢を醸造することができた。また、容積20L規模の回転円盤型の好気性微生物用バイオリアクターを用いて、酢の醸造ができた。さらに、液化仕込の酒製造工程で副産物としてでる高タンパク質酒粕を用いて、農業用の酢（アミノ酸含量の多い酢）をバイオリアクターによって造りだせる可能性が示唆された。

## 1 緒 言

微生物は常温常圧で複雑な化学反応を効率よく行うので、その活用が望まれている。バイオリアクターは、酵素・微生物等の生体触媒を用いて、物質生産、機能の変換等を効率的に行うための反応システムであり、現在、アミノ酸、異性化糖、オリゴ糖等での実用化例が知られている。通常、バイオリアクター内では微生物や酵素の流出を防ぎ、再利用するために、それらの固定化が行われる。酵素や微生物を固定化する場合、一般的には、高分子凝集剤等を使ってビーズ状に固定化が行われている。ただし、この方法はコストや手間がか

かり、また、高分子凝集剤による毒性や反応性の低下などの問題の生じる場合がある。京都府中小企業総合センターでは、これらの固定化剤を使わない方法について検討し、微生物を不織布等に自然付着させる固定化法を開発した。<sup>1)2)</sup>本法は不織布担体あるいはそれにパーライトを併用した担体に微生物を固定化するものである。

今回、本法を用いて微生物を固定化したバイオリアクターによる酢の醸造を行った。

## 2 . 実験方法

### 2 . 1 保持担体

微生物の保持担体としてはポリプロピレン不織布（山中産業株式会社）を単独で使用するか、多孔性物質のパーライト（三井金属鉱業製加工4号）と併用した。

---

\* 応用技術課主任研究員  
\*\* 応用技術課技師  
\*\*\* 応用技術課長  
\*\*\*\* 京都水研株式会社  
\*\*\*\*\* 株式会社飯尾醸造

## 2.2 使用菌株及び培養

酢酸醸造のアルコール発酵用酵母としては、*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 26602を用いた。酢酸発酵菌については、酢醸造メーカー（株式会社飯尾醸造）から入手した酢酸発酵もろみをそのまま種菌として使用した。

## 2.3 実験装置と方法

図1の装置によりアルコール発酵を行った。原料液としてグルコース、蜂蜜を用いた。

図2図3の装置により酢酸発酵を行った。図2の装置は3L規模であり、回転体の内部には50mm厚のドーナツ板状不織布を圧縮固定し、パーライトを添加し、1回転する毎に不織布全面が必ず1回液中に没するようにした。アルコール発酵でできた液に水を加え、回転数0.4rpm、35℃で培養した。図3の装置は回転円盤型好気性微生物用バイオリアクターとして試作したもので20L規模である。

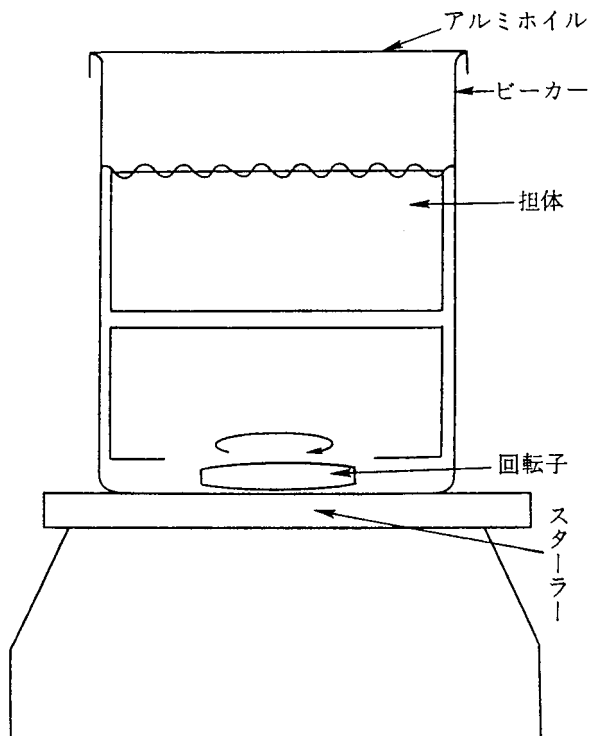


図1 アルコール発酵用実験装置

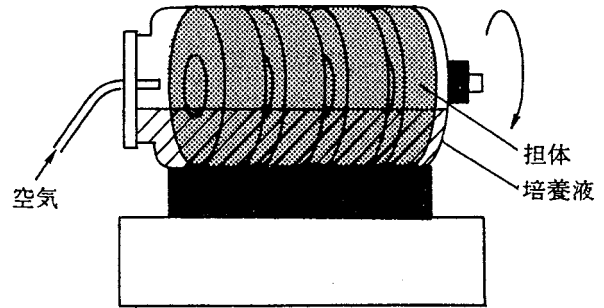


図2 酢醸造用バイオリアクター

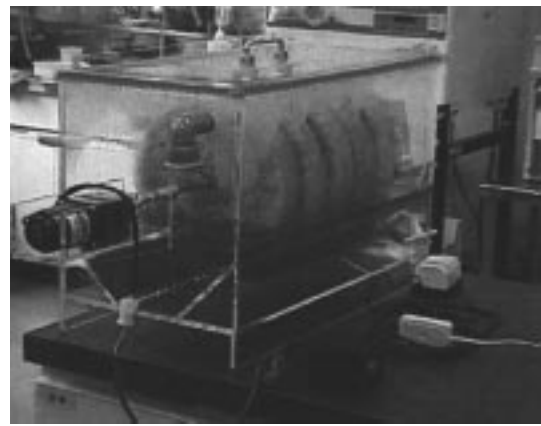


図3 回転円盤型好気性微生物用バイオリアクター

## 2.4 測定分析

グルコース、フラクトースはベリンガー・マンハイム(株)のFキットを用いて分析した。

スクロースは(株)島津製作所製高速液体クロマトグラフ LC-10AT でカラム MCI-GEL CK04S を用いて分析した。

酢酸、エチルアルコールは(株)島津製作所製ガスクロマトグラフ GC-15A でガラスカラム (5% Thermon-3000 SHINCARBON A) を用いて分析した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 蜂蜜の成分分析

蜂蜜に含まれる糖の分析を行ったところ、グルコース40.7g/100g、フラクトース35.6g/100g、スクロース0.48g/100gであった。このように糖

質76.78g / 100g を含む蜂蜜を原料の一部として、酵母によるアルコール発酵を行った。

### 3.2 酢酸発酵

米酢は静置発酵といわれる方法で生産されており、この方法では、種酢に諸味を加温して注入し、静置して酢酸菌によるアルコールの酸化が行われる。この方法では、酢酸発酵に1~3ヶ月という長期間を要する。以前の試験において<sup>3</sup>酢製造期間の短縮を図るためにパーライトと不織布に酢酸菌を固定化した回転式バイオリアクターを用いて酢酸発酵を行い、アルコールから酢酸への変換を行うことができた。

本研究では、以前の試験が3L規模の試験であったので、実用化へ近づけるために試作した20L規模の酢酸発酵試験を行った。原料として種酢(36%)もろみ(28%)水(36%)の割合で混合した液をバイオリアクターに入れ、酢の醸造を行った。図4にエタノール、酢酸の変化を示した。

約6%の酢酸が6日間で得られ、バイオリアクターを用いて20L規模で酢の醸造が可能であった。また、エタノール(3%)を原料として、酢酸発酵を行った。図5にエタノール、酢酸の変化を示した。エタノールを原料として6日間で酢酸を造ることができた。

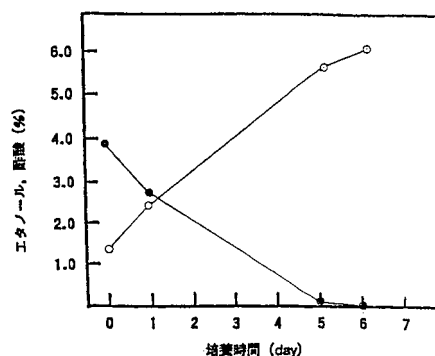


図4 培養液中の酢酸、エタノールの変化  
●：酢酸 ○：エタノール

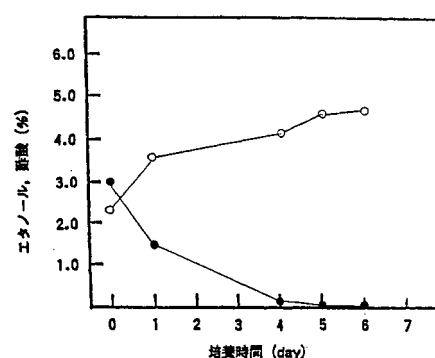


図5 培養液中の酢酸、エタノールの変化  
●：酢酸 ○：エタノール

### 3.3 蜂蜜酢等の醸造

次に、新規な酢の開発を狙って、蜂蜜を原料の一部とした酢の醸造を行った。具体的には、蜂蜜5%グルコース7%を原料としてバイオリアクターによる酢の醸造を行った。グルコース、フラクトース、エタノール、酢酸の培養中の変化は表1に示すように、アルコール発酵で1.4%程度のエタノールができ、酢酸発酵により酢酸が2.2%か

表1 培養液中のグルコース、エタノール、酢酸の変化  
(原料：蜂蜜5% + グルコース7%)

	アルコール発酵				酢酸発酵			
	0日目	2日目	3日目	6日目	0日目	2日目	3日目	6日目
グルコース (g/100ml)	7.6	5.4	5.4	3.6	-	-	-	-
フラクトース (g/100ml)	1.0	0.8	0.7	0.7	-	-	-	-
エタノール (g/100ml)	0	0.4	0.8	1.4	1.4	0.4	0.3	0.2
酢酸 (g/100ml)	-	-	-	-	2.2	3.0	3.2	3.5

ら3.5%に増加し、少し蜂蜜の風味をもった酢が ノ酸含量の多い酢は農業用に使用されている。一

表2 培養液中の全アミノ酸、エタノール、酢酸の変化  
(g/100ml)

	全アミノ酸	エタノール	酢酸
0日目	0.766	2.00	3.24
1日目	0.789	1.15	3.59
3日目	0.794	0.62	3.95
5日目	0.798	0.42	3.95
8日目	1.171	0.33	4.24
11日目	1.332	0.12	4.26
13日目	1.512	0.08	4.58
15日目	1.612	0.08	4.77

表3 アミノ酸含量の変化  
(mg/100ml)

	0日目	1日目	3日目	5日目	8日目	11日目	13日目	15日目
アスパラギン酸	64	63	66	67	70	85	92	101
スレオニン	51	51	52	53	55	66	72	77
セリン	52	52	54	56	58	72	77	83
グルタミン酸	79	79	82	83	89	109	117	128
プロリン	54	53	57	57	58	71	77	84
グリシン	58	59	61	62	66	80	86	93
アラニン	127	128	132	134	145	177	192	208
バリン					85	102	109	118
メチオニン	10	11	7		76	32	84	80
イソロイシン					67	77	85	89
ロイシン	66	84	66	69	115	137	150	165
チロシン	56	56	59	60	92	102	114	114
フェニルアラニン	39	42	42	41	56	66	73	74
ヒスチジン	40	40	41	42	51	59	67	71
リジン	40	40	42	42	42	51	67	72
アルギニン	30	31	33	32	46	46	50	55

できた。なお、アルコール発酵においてエタノール濃度が低かったのは、使用している酵母が少し弱っていたためと思われる。

次に、農業用酢の醸造について検討した。アミ

方、液化仕込酒粕はタンパク質を多く含み(タンパク質36.2%、脂質7.5%、繊維1.7%、水分40.2%)、そのほとんどは廃棄物として処理され、一部飼料として利用されているに過ぎない。このタンパク

質を多く含む液化仕込酒粕を酢製造工程中に添加することによって、タンパク質がアミノ酸に分解されて、アミノ酸の多い酢ができないか検討した。具体的には、図2に準じたバイオリアクターに酢酸菌を固定化し、酢培養液（種酢、もろみ、水）200mlに高タンパク質酒粕2gを添加し酢の醸造を行った。表2に全遊離アミノ酸、エタノール、酢酸の変化を示した。全アミノ酸は5日間で徐々に増加している。また、表3に個々のアミノ酸含量を示した。アラニン、グルタミン酸が多く、個々のアミノ酸も徐々に増加しており、アミノ酸含量の多い酢を造ることが可能であると思われる。なお、今後、高タンパク質酒粕の添加量等についてさらに検討する必要があると思われる。

#### 4 まとめ

微生物をパーライト、不織布に固定化したバイオリアクターを用いて酢の醸造を行い次のような

結果を得た。

- (1) 蜂蜜を原料の一部とした酢を醸造し、蜂蜜の風味をもつ酢ができた。
- (2) 容積20L規模の回転円盤型の好気性微生物用バイオリアクターを用いて、酢の醸造ができた。
- (3) 液化仕込の酒製造工程で副産物としてでる高タンパク質酒粕を用いて、農業用の酢（アミノ酸含量の多い酢）をバイオリアクターによって造りだせる可能性が示唆された。

#### （参考文献）

- 1) 中西貞博、早川 潔、上野義栄：特許第1985393号（1995）
- 2) 早川 潔：食品工業、39、40（1996）
- 3) 河村真也、早川 潔、上野義栄、東 和徳、村上 誠、浦辺裕光、飯尾 毅：京都府中小企業総合センタ - 技報、25、31（1996）